

09/284578
PCT/JP97/03710

26.11.97

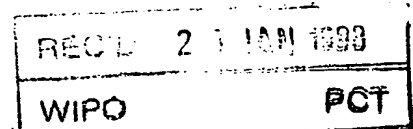
日本国特許庁
PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されて
いる事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed
with this Office.

出願年月日
Date of Application:

1996年10月15日



出願番号
Application Number:

平成 8 年特許願第 2 7 2 4 2 5 号

出願人
Applicant(s):

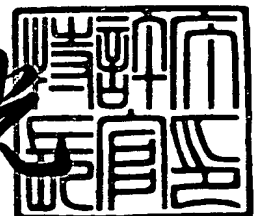
株式会社荏原製作所

PRIORITY DOCUMENT

1998年 1月 9日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

荒井寿光



出証番号 出証特平09-3109322

【書類名】 特許願

【整理番号】 P-23980

【提出日】 平成 8年10月15日

【あて先】 特許庁長官殿

【発明の名称】 生物活性を持つ高分子基体製品

【請求項の数】 7

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県藤沢市本藤沢4丁目2番1号 株式会社荏原総合研究所内

【氏名】 深川 泰男

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県藤沢市本藤沢4丁目2番1号 株式会社荏原総合研究所内

【氏名】 宮 晶子

【特許出願人】

【識別番号】 000000239

【氏名又は名称】 株式会社荏原製作所

【代表者】 前田 滋

【代理人】

【識別番号】 100073874

【弁理士】

【氏名又は名称】 萩野 平

【電話番号】 03-5561-3990

【選任した代理人】

【識別番号】 100081075

【弁理士】

【氏名又は名称】 佐々木 清隆

【電話番号】 03-5561-3990

【選任した代理人】

【識別番号】 100066429

【弁理士】

【氏名又は名称】 深沢 敏男

【電話番号】 03-5561-3990

【選任した代理人】

【識別番号】 100093573

【弁理士】

【氏名又は名称】 添田 全一

【電話番号】 03-5561-3990

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 008763

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9005854

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 生物活性を持つ高分子基体製品

【特許請求の範囲】

【請求項1】 選択的生物活性を発揮する低分子化合物が高分子化合物よりなる基体に結合しており、前記高分子基体に結合している前記低分子化合物が、結合している状態で前記選択的生物活性の対象となる標的作用体と接触して、選択的生物活性を発揮するものであることを特徴とする生物活性を持つ高分子基体製品。

【請求項2】 高分子化合物よりなる前記高分子基体が、有機または無機高分子化合物よりなる基体であることを特徴とする請求項1記載の生物活性を持つ高分子基体製品。

【請求項3】 有機または無機高分子化合物よりなる前記高分子基体が、グラフト化された高分子基体であることを特徴とする請求項2記載の生物活性を持つ高分子基体製品。

【請求項4】 前記選択的生物活性を発揮する低分子化合物が、化学療法剤であることを特徴とする請求項1ないし請求項3のいずれか1項に記載の生物活性を持つ高分子基体製品。

【請求項5】 前記化学療法剤が、抗生物質であることを特徴とする請求項4に記載の生物活性を持つ高分子基体製品。

【請求項6】 前記抗生物質がベータ・ラクタム系抗生物質群から選ばれた少なくとも1の抗生物質であることを特徴とする請求項5記載の生物活性を持つ高分子基体製品。

【請求項7】 前記抗生物質がテトラサイクリン系抗生物質、クロラムフェニコール系抗生物質、マクロライド系抗生物質及びアミノ配糖体系抗生物質の群から選ばれた少なくとも1の抗生物質であることを特徴とする請求項5記載の生物活性を持つ高分子基体製品。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、生物活性を発揮する低分子化合物、好ましくは選択的な生物活性を発揮する低分子化合物を、環境（ここでは細胞内部のミクロ環境から自然環境までの多種多様な環境を意味する）中に自由拡散はできないが、該低分子化合物本来の生物活性は発揮できるような様式で高分子基体に固定することにより、標的とする作用体（各種生物、組織、器官、細胞のような生命体から、受容体の如き構造物、酵素、抗原抗体、ホルモンのような非生命体にわたる広範な薬剤使用対象物）だけに活性を発揮し、それ以外の作用体には影響を与えたり、環境を汚染したりすることのない生物活性を持つ高分子基体製品を提供することに関する。

【0002】

【従来の技術】

従来、薬物（以下「薬剤」ともいう）の選択毒性を求めて、標的作用体に対してより特異性が高い物質の開発が進められてきたが、一方で選択性の低い薬物については、薬物を管理された特定の場所で使用することで標的生物以外の生物への影響を少なくする利用技術が開発されてきた。例えば、害虫誘引剤と殺虫剤を組み合わせたものを用い、標的害虫だけを殺虫剤に誘引して死滅させるという工夫がなされている。しかし微生物に対しては、標的病原菌を誘引し、それだけを死滅させるような利用技術は開発されていないため、標的微生物に選択毒性のある薬剤を単独使用する以外に有効な方法がない。

【0003】

このような状況の中で、農林水産食品その他原材料の大量生産では、本来人間や動物個体の緊急治療用に開発された化学療法剤がそのまま、あるいは一部修飾された後使用されたり、作用選択性の低い有機合成農薬（殺虫剤、殺菌剤、殺草剤、カキ付着防止剤など）が使用されたりしているために、標的作用体以外のものに無視できない薬害を与えているばかりでなく、薬剤の環境内拡散によって耐性生物の出現を誘発し、本来人間の緊急治療用として使用していた薬剤が使えなくなるという重大な危険性も指摘されている。

すなわち、自然界の生態系の中で大部分を構成する非病原性細菌群の間に抗生物質耐性、特に多種類の抗生物質に対する耐性（多剤耐性）が広がり、結果として病原菌の間に多剤耐性を広げることになっている（吉川昌之介、B u l l .

of Jap. Soc. of Microbial Ecology 10, 3, 141-148 (1995)。

【0004】

医薬においても、例えば、抗癌剤は癌の治療に有効な効果を発揮する医薬であるが、そのまま人体に投与すると、抗癌剤は正常細胞にも作用して副作用を及ぼすので、投与には種々の工夫が必要である。癌の治療において、正常細胞に及ぼす副作用を軽減するため、自由拡散を極度に制限した抗癌剤を患部に置き、局所的に徐放させる試みが提案されている。例えば、生体内で非酵素的に加水分解される高分子量ポリ乳酸からなるカプセル中にロムスチンのような抗癌剤を閉じ込め、あるいは、生体内で酵素的に加水分解されるデキストランのカルボキシ側鎖にマイトマイシンCを結合させ、徐放性医薬として投与するもの（H. Hashida et. al. Chem. Pharm. Bull. 30 2951 (1982)）等を挙げることができる。しかし、これらの場合においても、薬物を患部に接近させて薬物の作用範囲をできるだけ小さくしようとしているものの、生物活性を発揮させる時には、薬物は生体内で遊離の状態にあるため、正常細胞への作用を完全に排除することはできない。

従来においては、いわゆる薬剤を固定状態とすると薬剤が有効に作用しないと考えられていたし、基本的に薬剤は遊離状態でのみ作用するものとかんがえられてきた。言い換えれば薬剤は固定状態とする際にその薬効を失うものと考えられていた。このため、薬剤を何らかの修飾を施したり、担体に固定して製造しても、それを標的作用体に作用させるにあたり遊離化しないと効果が得られないと思われていたため、前記の徐放性医薬のように固定した医薬は、固定部から放出されて標的作用部に到達して遊離しその作用をするようになっている。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

薬学では、総ての低分子薬理化合物（毒物から治療剤を含む広範囲の薬理化合物を意味する）は、作用空間あるいは領域中に遊離・溶解状態で存在し、環境内で自由に運動・拡散し、薬剤使用の標的である作用体に到達して薬理化合物固有の生物活性を発揮するという基本的作用機構が薬剤使用の必須前提であった。そ

のため、使用する薬剤が標的物に作用するだけでなく、環境内部に共存する総ての作用体に対して多かれ少なかれ何らかの好ましくない影響（副作用）を与えるという不必要な現象を伴うことは避けられなかった。

一般に消毒薬、殺菌剤、防カビ剤などと称される抗微生物性薬剤は現代人の生活に必要なものであるが、これらの薬剤は作用選択性に乏しく、薬剤本来の溶解性・自由拡散性のために環境内に放出され、重大な環境内蓄積を引き起こし、人間、動物、植物に対して長期間にわたり累積的に悪影響を与えている。

【0006】

一方、現在の化学療法剤の研究・開発・使用では、できる限り所望生物活性が標的物に限定され、標的物以外のものにはゼロまたは許容可能な程度に低い影響しか与えない（作用選択性が高い）薬剤だけを選び、認可・製造・販売・使用してきた。作用選択性の高さを最重視するのは、薬剤が環境内に拡散した場合においても、多種類の生物が混在しバランスを保って機能している自然界の生態系の破壊を回避することが目的である。人間や動物の生体内や自然界も微生物生態系が機能している場であり、微生物生態系のバランスが崩れると、それまで優占種となれなかった有害微生物が増加し、新たな病害を引き起こすこともある。この例としては、宿主が長い間保有し、生態学的平衡関係にあった常在構成菌種によって起こる日和見感染症（内因性感染症）等を挙げることができる。

以上のように、従来から使用されている殺菌剤、殺虫剤、防カビ剤、農薬、化学療法剤等すべての薬剤は、選択毒性の有無にかかわらず、遊離の状態で使用されるため、環境中に拡散し、標的生物あるいは細胞以外の一般生物あるいは細胞にも影響を与え、生態系のバランスを崩すことが大きな問題となっている。

【0007】

本発明者等は、環境劣化や薬剤の副作用が重大問題化した今日では、これまでの自由拡散条件下での薬剤使用という薬学の基本前提条件に加えて、自由拡散が起こらない条件下での薬剤使用という新しい薬学の基本前提条件を想定し、具体的なアプローチを実証できれば、環境汚染や薬学の問題に対する新しい解決法を提供できると考えた。

薬剤の用途から見て別の表現をすれば、例えば病原菌の感染症に罹患した人間

や動物のような特定個体の生命を守るために緊急に薬剤治療する場合は、従来の概念通り遊離状態の化学療法剤を使用するのはやむを得ない。しかし、例えば建設業や漁業における薬剤の大量使用のように、環境微生物の無差別殺滅による予防効果を主目的として大量の薬剤を自然環境に拡散させている場合には、薬剤の緊急必然性と累積的環境劣化の重大性を比較判断し、できれば薬剤の自由拡散的使用を禁止するのが極めて望ましい。

【0008】

さらに、人や動物の緊急薬剤治療においても、例えば制癌剤、殺虫剤、殺菌剤など従来の全身投与法では副作用が大きいため使用制限されたり、使用不可能であった薬剤を本発明により環境内自由拡散を阻止して薬害を無視出来る程度に抑制して使うことができれば、新しい緊急治療法を提供できると考えられる。

このように本発明は、上記環境劣化や副作用のような社会的な関心度の高い重大問題の顕著な改善を課題とする。

【0009】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、低分子薬理化合物を以下に示す条件及び状態で高分子担体に結合させれば、

- ①高分子量基体自身は、使用条件下において安定で、分解することがない；
- ②選ばれた薬理化合物と担体の間で可能な結合様式の中から薬理化合物の生物活性が発揮される結合様式だけを選んで薬理化合物を担体に結合させる。
- ③基体に結合されたままで、生物活性を示す低分子薬理化合物分子付近の環境が生物活性を発揮するのに適切である；

薬理化合物が薬剤本来の生物活性を発揮し得ること、従って高分子基体に結合している状態で、薬剤-担体結合物の機能を確認することができる（評価できる）ことを見だし、本発明を完成するに至った。このように高分子基体に結合されている薬剤は、使用期間中環境内に全く拡散しないことはいうまでもない。

【0010】

本発明の前記課題は、本発明の生物活性を持つ高分子基体製品を提供することによって達成される。すなわち、

(1) 選択的生物活性を発揮する低分子化合物が高分子化合物よりなる基体に結合しており、前記高分子基体に結合している前記低分子化合物が、結合している状態で前記選択的生物活性の対象となる標的作用体と接触して、選択的生物活性を発揮するものであることを特徴とする生物活性を持つ高分子基体製品。

(2) 前記高分子基体が、有機または無機高分子化合物よりなる基体であることを特徴とする前記(1)に記載の生物活性を持つ高分子基体製品。

(3) 有機または無機高分子化合物よりなる前記高分子基体が、グラフト化された高分子基体であることを特徴とする前記(2)に記載の生物活性を持つ高分子基体製品。

(4) 前記選択的生物活性を発揮する低分子化合物が、化学療法剤であることを特徴とする前記(1)ないし(3)のいずれか1項に記載の生物活性を持つ高分子基体製品。

【0011】

(5) 前記化学療法剤が、抗生物質であることを特徴とする前記(4)に記載の生物活性を持つ高分子基体製品。

(6) 前記抗生物質がベータ・ラクタム系抗生物質群から選ばれた少なくとも1の抗生物質であることを特徴とする前記(5)に記載の生物活性を持つ高分子基体製品。

(7) 前記抗生物質がテトラサイクリン系抗生物質、クロラムフェニコール系抗生物質、マクロライド系抗生物質及びアミノ配糖体系抗生物質の群から選ばれた少なくとも1の抗生物質であることを特徴とする前記(5)に記載の生物活性を持つ高分子基体製品。

【0012】

本発明において本質的に重要なことの第一は、従来は薬剤が作用空間あるいは領域中に遊離・溶解状態で存在し、環境内で自由に運動・拡散して薬剤使用の標的である作用体に到達し、薬理化合物固有の薬効を発揮するという基本的作用機構が従来の薬剤使用の必須前提であり、薬理化合物が高分子担体と結合したまま薬効を発揮できるという概念が存在しなかったことである。

従って、従来薬剤の生物活性を評価する方法は、「薬剤が溶液中において単独

に自由である状態、すなわち薬剤が溶解していることを前提にして、希釈法あるいは拡散法によってその力価を測定し、その力価に基づいて薬剤の薬効の有無を評価する」という方法が採用されてきた。

これに対し、本発明において初めて高分子基体に結合した状態において、選択的生物活性を発揮する低分子化合物の生物活性作用を評価し、基体に結合したままで低分子化合物が生物活性を発揮し得ることを見いだしたことにある。実際、高分子基体に結合している状態にある薬剤について、その生物活性を評価するということは、以前には全く行われていないことである。

【0013】

従来薬剤を基体に固定しようとするに当たり、それを化学反応で結合させようとするときには、その薬剤の低分子化合物は、前記の選択的生物活性を失うことになるといわれていた。

本発明者は、前記低分子化合物をその選択的生物活性が失活しない化合物の部位で基体に結合させるときには、基体に結合した状態で前記低分子化合物についてその選択的生物活性を発揮させることができることを確認したものである。そして、それにより有用な選択的生物活性を有する低分子化合物が結合した高分子基体を得ることができた。

一例として、アンピシリンを固定した高分子基体を得る際において、後述する図1の(A)に示すように、アンピシリンのアミノ基で基体側のカルボキシル基と反応させて結合させる場合には、アンピシリンの薬効は得られるが、図1の(B)に示すように、アンピシリンのカルボキシル基の部位で結合させる場合にはアンピシリンの薬効は得られない。このように選択的生物活性を有する低分子化合物については、その選択的生物活性が失活しない部位（以下「特定部位」ともいう）で結合させればよいことを本発明者は発見し、それに基づいて特定部位で結合させることを検討し、本発明に到達したものである。勿論この特定部位は各選択的生物活性を有する低分子化合物に固有であり、上記アンピシリンの例に限定されない。低分子化合物により結合する部位数も必ずしも1ヶ所には限らないし、また結合部の基も必ずしもカルボキシル基とアミノ基の結合に限定されず他の組合せの場合もある。

【0014】

従来、基体に薬剤を固定するために、化学反応により結合させようとするものが試みられているが、単に反応させるのみでは図1の(B)の場合のように、その選択的生物活性が失活してしまい、普遍的に選択的生物活性を有する低分子化合物を結合した高分子基体を得ることはできない。

本発明は、そのような問題点がなく、必ず選択的生物活性を有する低分子化合物を結合した高分子基体を得たものである。

【0015】

ここで、選択的生物活性を発揮するという表現は、宿主環境（自然界、宿主動植物、細胞、オルガネラなど）には実質的に無害で、除去または制御したい標的有害作用体だけに生物活性を発揮することをいう。また、選択的生物活性を発揮する低分子化合物は、いわゆる現代の化学療法剤であることが望ましい。化学療法剤と称される薬物は、宿主を障害することなく、標的とする有害作用体に対してだけ障害を与える選択毒性の高い薬物であり、現在ではその処理対象は病原性微生物、害虫などの生物だけでなく、悪性腫瘍などの細胞や酵素、受容体、ホルモンなどの非生命体まで、著しく広範囲におよんでいる。

【0016】

選択的生物活性を発揮する低分子化合物が、基体に結合されている状態で選択的生物活性を維持するためには、低分子化合物は適当な長さのスペーサを介して基体と結合していることが好ましい。また、スペーサと高分子基体及びスペーサと低分子化合物は、自然遊離化を防ぐために共有結合で結合していることが必要である。スペーサを設けるに当たっては、予め高分子基体に結合してあるスペーサ部分に低分子薬剤化合物を結合しても、予めスペーサを結合した低分子化合物をスペーサ部分で高分子基体に結合させても良い。ただし、前記スペーサは、後記する有機ポリマ基体から分岐されるグラフト鎖そのものを意味するものではなく、結合した薬剤分子と基体との間に一定の距離を与えることができるものなら、なんであってよい。

【0017】

【発明の実施の形態】

(1) 低分子薬理化合物

本発明では、先ず標的物（「標的作用体」をいう）に対し所望生物活性を持つ低分子薬理化合物（以下「薬理化合物」あるいは「薬剤」ともいう）を選定し、次に選定した低分子薬理化合物の化学構造－活性相関の基本情報を採取する必要がある。

より具体的には、先ず標的物が決まれば、例えば既存の薬剤データベースから、その標的物に対する生物活性を指標として適当と思われる候補薬理化合物群を選び出した後、遊離状態で比較・試験して、候補薬理化合物群の中から最適の薬理化合物を決めることもできるし、あるいは標的物に対して新しい薬理活性を持つ未知の薬理化合物をスクリーニングすることもできる。

次いで、選定した低分子薬理化合物の構造－活性相関特性を検討し、選定した薬理化合物の分子に他の化合物を化学結合させても”薬理化合物本来の生物活性が失効しない”薬理化合物中の官能基（固定化のための活性点となる基）を選定する必要がある。

【0018】

低分子薬理化合物本来の化学構造のままでは他の化合物との結合に使える官能基が見つからない場合、有機化学的あるいは生物学的手法で新しい官能基を導入することもできる。これまでの薬理化合物の合成・修飾研究の結果から明らかなように、また低分子薬理化合物の高分子基体への固定化研究が試みられなかったことから明らかなように、安直な薬剤の修飾や固定化を行うと、薬剤活性の失効につながるものが圧倒的に多いことは良く知られるところである。

【0019】

本発明に利用可能な薬剤の中、重要な化学療法剤としては、以下のものが例示できる。ただし、薬剤としては例示したものに限られるものではなく、新たにスクリーニングした未知の化合物を利用することもできる。

グリゼオフルビン (griseofulvin)、ベルナマイシン B (vernAMYcin B)、オストレオグリシン G (ostreogrycin G)、イソニアザイド (isoniazid)、ピリドキシン (pyridoxine)、PAS、ピマリシン (

pimaricin)、フンギクロミン (fungichromin)、フンギシジン (fungicidin)、フオルマイシン (formycin)、トヨカマイシン (toyocamycin)、クロラムフェニコール (chloramphenicol)、テトラサイクリン (tetracycline)、ストレプトマイシン (streptomycin)、エリスロマイシン (erythromycin)、アンピシリン (ampicillin)、ノルカルデシン (nocardicin)、SQ 83360、OA-6129などである。

【0020】

これらの薬理化合物の中でも、ベータ・ラクタム系抗生物質、テトラサイクリン系抗生物質、クロラムフェニコール系抗生物質、マクロライド系抗生物質及びアミノ配糖体系抗生物質などが好ましいものである。

ベータ・ラクタム系抗生物質の例としては、アンピシリン、セファレキシン、セフォタキシム等を挙げることができる。また、テトラサイクリン系抗生物質の例としては、ミノサイクリン等を、クロラムフェニコール系抗生物質の例としては、クロラムフェニコール等を、アミノ配糖体系抗生物質の例としては、ストレプトマイシン等を、マクロライド系抗生物質の例としては、エリスロマイシン、ロイコマイシン、オレアンドマイシン等を挙げることができる。

【0021】

(2) 高分子基体 (マトリックス)

本発明において、選択的生物活性を発揮する低分子化合物を結合させるために用いる高分子基体 (以下単に基体ともいう。) としては、高分子化合物からなり、本発明の”選択的生物活性を持つ高分子基体製品”の構成要素として用いて、低分子薬理化合物がその生物活性を発揮している期間中 (すなわち、製品の有効期間中)、分解したり、解離したりして薬剤を拡散性にしないものなら特に限定されない。本発明の高分子化合物は有機高分子化合物でも無機高分子化合物でも良い。

種々の基体を用い得るが、基体として備えているべき望ましい特性は、例えば Pure and Appl. Chem. vol. 67, No. 4, pp. 59

7～600（1995）に記載されているものが参考にできる。すなわち、（1）使用される条件下で不溶性である。（2）固定化容量が大きい。（3）化学的に安定（i n e r t）で機械的強度が強い、ということである。

【0022】

本発明における基体は、前記の低分子薬理化合物を固定化する方法と製品が使用される用途とに応じて適宜選定される。

まず固定化反応の様式と条件、および使用環境に適した基体を選定する必要がある。例えば高温、高圧、強酸性、強アルカリ性等の過酷な使用条件が想定される場合には、物理化学的に安定な無機高分子や有機高分子が選ばれなくてはならないであろうし、人間や動物での治療を想定する場合には、副作用の少ない天然ポリマーを選ぶのが良い。

ついで、選定された基体は、前記選定された低分子薬理化合物を固定化するのに適した官能基を持っていないとてはならない。

さらに實際上低分子薬理化合物が固定化されたままで生物活性を発揮するためには、基体から適当な長さのスペーサを介して結合して、生物活性を発揮するのに適したマイクロ環境を与えることが望ましい。

【0023】

（2-1）有機高分子化合物からなる基体

有機高分子化合物としては、樹脂と呼ばれる架橋された高分子物質でも良いが、低分子薬理化合物を結合させる膜、網、球状体のような製品に加工するためには合成有機ポリマーが好ましい。

（2-1-1）合成有機ポリマーからなる基体

合成有機ポリマーとしては、ポリエチレン、ポリプロピレンなどのポリオレフィン類、ポリエチレンオキサイド、ポリプロピレンオキサイドなどのポリエーテル類、ポリアクリロニトリル、ポリアクリル酸エステル、ポリメタアクリル酸エステル特にポリ（ヒドロキシエチル）メタアクリル酸エステル、ポリアクリル酸アミドなどのポリアクリル酸類、ポリスチレン、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルアルコール、エチレン酢酸ビニル共重合体、ポリ酢酸ビニルスチレンなどのビニル共重合体類などの合成ビニルポリマー類、ポリエステル類、ナイロンなどの縮合

重合体などを挙げる事ができる。

【0024】

(2-1-2) その他の有機ポリマーからなる基体

その他の有機ポリマーとしては、従来からゲルろ過、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィーなどの担体を構成するのに使用されている天然有機ポリマーないし変成天然有機ポリマーが挙げられる。これらを例示すると、セルロース、アガロース、グルコマンナン、キトサン、プルラン、澱粉、デキストランなどである。従来アフィニティクロマトグラフィー用などの担体は、これらの天然有機ポリマーの多孔性球状体として加工されている。

これに対し、繊維状や膜状に加工可能な素材としては、木綿繊維、麻繊維などを構成するセルロース、羊毛繊維や絹繊維などを構成する線状タンパクなどの天然有機ポリマーが挙げられる。

【0025】

(2-2) 無機ポリマーからなる基体

無機ポリマーとしては、ケイ素樹脂（シリコンともいわれる。）が挙げられる。直鎖状ケイ素樹脂を幹とするポリマーを活性化するためには、例えばケイ素樹脂の主鎖を構成するケイ素化合物をヒドロシリル化ケイ素とするか、枝別れ部にヒドロシリル化ケイ素を構成単位として有するシリコンを用い、これにエピクロルヒドリンを作用させてヒドロシリル化ケイ素の部分をエポキシ活性化してエポキシ活性化シリコンとする方法が挙げられる。

【0026】

(2-3) 基体の好ましい加工形態

前記した合成および天然有機ポリマーや無機ポリマーは、使用目的に応じて、繊維状、膜状や球状に成形・加工して用いることができる。また、繊維状のものを種々のメッシュの網状に加工して使用することもできる。さらにまた、繊維状、膜状あるいは球状のものは多孔性のものとすることもできる。

これら基体は、他の金属やセラミックス、その他の材料からなる支持体や骨材等に保持して用いられても良い。

本発明の生物活性をもつ高分子基体製品は、前記繊維状基体、膜状基体や球状

基体の骨格を構成するポリマーその他の高分子化合物の活性点を利用し、適当なスペーサを介して直接低分子薬理化合物を結合しても良いが、基体の骨格を構成する高分子化合物からグラフト鎖を分岐し、それらグラフト鎖に設けた活性点（結合用の官能基）を利用して低分子薬理化合物を結合するのがより有利である。

【0027】

（2-4）高分子化合物基体のグラフト化

前記高分子化合物基体に生物活性を有する低分子薬理化合物を固定化するに際して、天然高分子化合物基体、合成有機高分子化合物基体あるいは合成無機高分子化合物基体に適当な官能基（例えば、カルボン酸基またはアミノ基）を有するグラフト鎖を付加して、グラフトポリマー化することが好ましい。

前記高分子化合物基体にグラフト鎖を付加するための活性点を設ける方法としては、電離性放射線を照射する処理、1種または2種以上の酸化剤による酸化処理等の一般に用いられる方法を利用することができるが、特に線源として電子線またはコバルト60を用いる電離性放射線照射法が好ましい。ビニル重合法によって基体を合成する場合には、共重合性モノマーを混合して共重合し、基体ポリマーの側鎖にビニル基からなる活性点を設ける方法もある。また、グラフト重合法としては液相グラフト重合法、気相グラフト重合法等を用いることができるが、モノマーを気体状態として基体に接触させる気相グラフト重合法が好ましい。

【0028】

前記のグラフト化においては、それより形成されるグラフト鎖にスペーサとしての役割を生じさせる。そのグラフト鎖の末端やその途中に低分子化合物が結合されるため、結合された低分子化合物が基体から遠い位置に配置されることになり、低分子化合物の生物活性が及ぶ作用領域を広い範囲とすることができ、有効性を大きくすることができる効果がある。特に、グラフト鎖の長さが十分に長くなるようにして流体の流れや物質の濃度向背等の条件に対応して動き得るとすると、その上の低分子化合物と作用体との接触確率を大きくすることができる。

低分子化合物はそのグラフト鎖の末端だけでなくその途中に結合されるため、長いグラフト鎖についてはより多くの数の低分子化合物を結合させることができ

る可能性があり、グラフト鎖の配置の適正化にらり作用効率の向上が期待できる。

【0029】

高分子化合物基体に設けたグラフト鎖中あるいは末端に設ける低分子薬理化合物を固定化のための官能基としては、次に示す低分子薬理化合物の固定化に使用する結合の種類と様式の項で記載する官能基等が良い。例えば、前記グラフト化側鎖にカルボキシル基（またはアミノ基）を設置しておく、この末端基と低分子薬理化合物のアミノ基（またはカルボキシル基）とを、カルボジイミド法を用いて結合することができる。

【0030】

（3）低分子薬理化合物の固定化に使用する結合の種類と様式

低分子薬理化合物の固定化に使用できる結合は、使用環境下で低分子薬理化合物の遊離が起こらないような強固な化学結合でなければならない。従来の広い固定化の定義では、包埋、イオン結合、練り込み、非特異的吸着などの結合手法が包括されているが、当然のことながら環境への低分子薬理化合物の遊離が起こらないことを前提とする本発明では使えない。従って、低分子薬理化合物と高分子基体の結合には、共有結合だけが利用可能となる。

しかも、従来多用されてきた”徐放性”と称される共有結合は、薬剤が薬効を発揮する前に遊離化されることを前提としているので、本発明では使えないことは明らかである。言い換えれば、高分子基体上への固定化反応に利用できる共有結合は、製品使用環境で薬剤の遊離化が起きないことを確実にするタイプでなければならない。具体的には、例えば低分子薬理化合物の官能基、高分子基体の官能基とスペーサの種類、結合の種類と様式などに依存して最適のものを選ぶ必要がある。

【0031】

前記の低分子薬理化合物を高分子基体に結合するに当たって用いられるスペーサは、基体側に設け、そのスペーサ末端に低分子薬理化合物を固定化する態様とするのが一般的であるが、スペーサを予め低分子薬理化合物の選ばれた活性点に取り付け、スペーサを有する低分子薬理化合物を「活性点を有する基体」にスベ

ーサを介して固定化しても良い。

前記した適当なスペーサは、「基体に設けた活性点」あるいは「基体から分岐されたグラフト鎖に設けた活性点」とを連結する官能基を分子の両端に有する化合物であり、両端の官能基を連結するものは、例えば直鎖状のメチレン ($-\text{CH}_2-$) 鎖等が好ましく、またオキシエチレン ($-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$) 鎖等でも良いが、高温、酸性、アルカリ性等の使用条件でも切断しない連結基であることが必要である。前記したグラフト鎖もこのスペーサの一種として役にたつものである。

【0032】

「基体に設けた活性点」、「基体から分岐されたグラフト鎖に設けた活性点」、「スペーサの両端（同じ基でなくても良い。）あるいは低分子薬理化合物における官能基」としては、例えば水酸基、アミノ基、エポキシ基、グリシジル基、イソシアネート基、アルデヒド基、カルボキシル基、ビニル基、アリル基等を挙げることができる。また、無機高分子基体における活性点としてはシリコン樹脂におけるヒドロシル基を挙げることができる。

【0033】

前記基体に設けた活性点、基体から分岐されたグラフト鎖に設けた活性点またはスペーサの両端あるいは低分子薬理化合物における官能基がアミノ基であり、カルボキシル基を活性基として有する低分子薬理化合物を固定化する場合には、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドのようなカルボジイミド縮合剤を用いて固定化することができる。

また前記基体に設けた活性点、基体から分岐されたグラフト鎖に設けた活性点またはスペーサの両端あるいは低分子薬理化合物における官能基が水酸基であり、アミノ基を活性基として有する低分子薬理化合物を固定化する場合には、末端水酸基を過ヨウ素酸酸化により末端アルデヒド基とし、末端アミノ基を有する低分子薬理化合物を作用させてシッフベース結合を生成し、シッフベース結合を還元して化学的に安定な炭素-窒素 ($-\text{CH}_2-\text{NH}-$) 結合として結合することができる。

【0034】

さらに本発明においては、低分子薬理化合物の種類と結合様式によっては、製品上で薬剤が生物活性を発現する場合の立体障害やマイクロ環境不適のために使えない結合もあるので、個々の薬理化合物と個々の基体についての生物活性発現の有無を確認する必要がある。

本発明においては、冒頭に述べたように低分子薬理化合物の固定化に際しては、低分子化合物側についていうと、その低分子化合物を失活させない部位について結合させるようにしなければならない。これは、従来低分子薬理化合物についてその薬理作用がその低分子化合物のどこの部位に基づくものであるかを解明することが十分に研究されていなかったこともあって、低分子薬理化合物をなんらかの担体に保持して使用しようとする場合においても、低分子化合物のどこの部位に結合すれば好いかほとんどわからないため、低分子化合物を担体に結合して支持するという考え方があっても、どのように結合すればよいか全くわかっていなかったもので、確実に支持する手段というものはなかったのである。

【0035】

本発明でアンピシリン、セファレキシム、セフトキシムのような側鎖にアミノ基、母核にカルボキシル基を有するペニシリンおよびセファロスポリン誘導体を基体に結合する場合、ペニシリンおよびセファロスポリン誘導体のカルボキシル基をそのままに維持し、側鎖のアミノ基を基体のカルボキシル基に共有結合した場合にのみ薬剤はその薬効を発揮することが確認されている。

図1の(A)には、ペニシリン誘導体の一例であるアンピシリンの側鎖のアミノ基を基体のカルボキシル基にカルボジイミド法により結合した場合を示す。この場合には母核のカルボキシル基はそのままに維持されているので、結合されたアンピシリンはその薬効を発揮することが確認されている。これに対し、図1の(B)には、基体のアミノ基にカルボジイミド法によりアンピシリン母核のカルボキシル基を結合した場合を示す。この場合には母核のカルボキシル基は化学変化を受けているので、固定化されたアンピシリンはその薬効を示さなくなる。

【0036】

本発明は、このようにその低分子薬理化合物について、その活性を阻害することのない部位で化学結合により強固に結合させる点を解明して、それを技術的手

段として普遍的に採用する点が新規なところであり、単に低分子薬理化合物を担体に化学反応で結合させ、その反応の結果を問題としないで、その反応の内容とか、結合の位置などを問題としない方法とは基本的に相違しており、普遍的にかつ効率的に生物活性を有する製品を得ることができるのである。従来においても、生物活性を有する製品を得ようと試みられたことがあるが、その際にはその結合位置などについてなんらの配慮がなされていないため、生物活性を有する部位で結合した結果その生物活性を失うか、立体的な構造からの影響でその生物活性が阻害されてしまうものであった。侥幸により本発明により意図的に結合せしめた部位を含んで結合したとしても、失活する部位とも多くの比率で結合するので、製品的効果は較ぶべくもないものでしか有り得なかった。これらの点から、従来においては意識的に薬理作用について効果の高い高分子基体をつくることができなかった。本発明は、前記した構造上の基本について深く研究した結果、これらの問題を解決したものである。

【0037】

本発明において低分子化合物と基体との結合の好ましい態様として、グラフト重合を行うに際しては、活性点を設けた基体に対し、以下に説明するような方法によってモノマーを用いてグラフト重合を行って基体にグラフト鎖を付加する。

従来のグラフト重合方法では、基体とモノマーを直接に接触させる液相グラフト重合法が一般的であったが、モノマーおよび洗浄薬品が多く必要であるため、ランニングコストが高くなる欠点がある。特に多孔性の基体の場合に多く必要となる上、洗浄に要する時間の長くなる。一方、モノマーを気体状態として基体と接触させる気相グラフト重合法は、重合装置の密閉性に配慮の必要性があるが、モノマー量が非常に少なくて済み、洗浄の必要もないので時間的にもコスト的にも有利である。気相グラフト重合法において問題となる不均一重合の問題も重合装置の改良で問題がなくなっている。

【0038】

本発明においてグラフト化する高分子化合物基体としては、有機高分子化合物でも無機高分子化合物でも良い。有機高分子化合物からなる基体としては、前記したように、ポリオレフィン類、ポリエーテル類、ポリアクリル酸類、ポリスチ

レン類、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルアルコール、ビニル共重合体類などの合成ビニルポリマー類、ポリエステル類、ナイロンなどのポリアミド類、ポリウレタン類などの縮合重合体などを挙げることができる。天然有機ポリマーとしては、前記木綿繊維、麻繊維などを構成するセルロース、羊毛繊維や絹繊維などを構成する線状タンパクなどの天然有機ポリマー、また変成天然有機ポリマーとしてはアセチルセルロース、アセチルブチルセルロース、アセチルフタリルセルロースなどを挙げることができる。また、無機高分子化合物からなる基体としては、前記直鎖状ケイ素樹脂を幹とするポリマーが挙げられる。

【0039】

高分子化合物基体に設けたグラフト鎖中あるいは末端に設ける、低分子薬理化合物を固定化のための官能基としては、すでに低分子薬理化合物の固定化に使用する結合の種類と様式の項で記載した官能基等が良い。また、例えば、前記グラフト化側鎖にカルボキシル基（またはアミノ基）を置換しておく、この末端基と低分子薬理化合物のアミノ基（またはカルボキシル基）とをカルボジイミド法を用いて結合することができる。

前記高分子化合物基体に設けたグラフト鎖中あるいは末端にカルボキシル基またはアミノ基などの活性点を設ける具体的方法としては、例えば、

(1) アクリル酸、メタアクリル酸をグラフトモノマーあるいはグラフト共重合モノマーとして用いてグラフト重合する方法（官能基はカルボキシル基）。

(2) アミノスチレンをグラフトモノマーあるいはグラフト共重合モノマーとして用いてグラフト重合する方法（官能基はアミノ基）。

(3) 酢酸ビニルをグラフトモノマーあるいはグラフト共重合モノマーとして用いてグラフト重合した後、酢酸ビニル単位を鹼化して生成するビニルアルコールの水酸基を利用し、（スパーサの説明の項にある前記エピクロロヒドリンとヘキサメチレンジアミンから誘導された）末端にエポキシ基とアミノ基を有するスパーサを置換する方法（官能基はアミノ基）。

などを挙げることができる。ただし、グラフト鎖中あるいは末端に活性点を設ける方法はこれらに制限されない。これらは低分子化合物固有の特性により適宜選定される。

【0040】

なお、本発明において低分子薬理化合物の固定化のより広い意味は、前記低分子薬理化合物が環境内で自由に運動・拡散することを防ぐという意味があるので、例えば、前記球状基体に低分子薬理化合物を固定化した（生物活性を有する）基体を被処理物（細菌、カビなど）を処理する空間に、例えば被処理物を含む空気をろ過する通路に設けたろ過床等に、前記球状基体が散逸しないように固定化することをも含むものである。

【0041】

（4）生物活性の検査

抗生物質などの医薬や農薬の機能の検査システムは、薬事法によって定められており、その方法は前記基体に固定化された薬理化合物の機能の検査には適さないので、本発明者らは、以下に説明する迅速性抗生物質活性評価法によって製品の機能を検査した。

すなわち、対数増殖期中期から後期に達するまで振盪培養した試験用微生物前培養液1、2滴および供試高分子基体製品（膜状の場合は1.0×1.0cmの切断片）を5mlの液体培地に入れ、試験用微生物の増殖に適した温度で振盪培養する。例えば、試験用微生物として*Bacillus subtilis* ATCC6633、*Staphylococcus aureus* FDA209P、*Escherichia coli* NIHJなどを用いる場合には、培地として*Nutrient Broth*培地を用いることができ、培養温度は30℃、前培養時間は一昼夜を採用することができる。

【0042】

共試の低分子薬理化合物担持高分子基体を培養培地に入れ、試験用微生物を植菌し、分光光度計を用いて、当該培養液の波長600nmにおける吸光度を適当な時間間隔で6～8時間測定し、試験用微生物の増殖曲線を求める。同時に、供試高分子基体製品を添加せずに同様に操作したものを対照とする。通常、対照の試験用微生物培養液は、測定時間の6～8時間の培養で、対数増殖後期あるいは定常期に達する。この時、薬剤を結合していない高分子基体についても、平行して同様に操作を行うことにより、高分子基体に結合した薬剤の活性をより正確に

評価することができる。

前記迅速性抗生物質活性評価法において、供試高分子基体製品が粒子状の場合は、 $1.0 \times 1.0 \text{ cm}^2$ の切断片の代わりに約 0.25 ml の供試高分子基体製品を用い、同様に操作する。また、供試高分子基体製品が膜状あるいは粒子状以外の形状であっても、膜状あるいは粒子状の高分子基体製品に準じた方法で評価することができる。この時、高分子基体製品が培地内に分散して、試験用微生物の増殖を波長 600 nm における吸光度で追跡できない場合には、当該培養液を適当な時間間隔でサンプリングし、光学顕微鏡下で観察して、対照の試験用微生物培養液と比較することで、活性を評価することができる。

【0043】

本発明に使用する試験用微生物は、通常の抗生物質の活性評価に用いられる微生物をはじめ、各種菌株保存機関が保存している標準菌株あるいは自然界から単離した微生物などを用いることができるが、例えば、

Staphylococcus aureus FDA209P、
Staphylococcus aureus Smith、
Staphylococcus aureus K2、*Bacillus subtilis* ATCC6633、*Bacillus anthracis*、*Mycobacterium* 607、
Mycobacterium vaccae ATCC15483、
Mycrococcus luteus ATCC9341、*Proteus vulgaris* OX-19、*Klebsiella pneumoniae* PCI 602、*Eschericia coli* NIHJ、
Eschericia coli JM109、*Eschericia coli* MV1190、*Pseudomonas aeruginosa*、
Salmonella enteritidis、*Candida albicans* 3143および*Trichopyton mentagropytes*等を挙げることができる。また、前記迅速性抗生物質活性評価法においては、選択した試験用微生物についてそれぞれ、増殖に最適な培地、培養温度、前培養時間を設定するのが好ましい。なお、それぞれ微生物

などの名前は原語で記載するのが学界の常識であり、カタカナを付すとかえって間違われるおそれがあるから、ここでは原語のみを記載する。

【0044】

現状では、基体に固定化された薬剤の量は、化学的にも、生物学的にも、遊離薬剤に適用する拡散法に基づく試験法に比較し得る精度で、定量的に評価することはできない。加えるに、薬剤が固定されている基体について、抗生物質としての活性の定量的な評価法はない。

さらに、従来の遊離薬剤に適用する拡散法に基づく試験法では、培地、使用ガラス器具等を滅菌するのみならず、評価対象の薬剤自体も無菌的に製造、保管されていることを前提としているため、一種類の試験用微生物の増殖に対する薬剤の効果を正確に評価できるものである。これに対し、本発明が対象としている高分子基体の中には、121℃でオートクレーブ滅菌することができない性質のものもあるため、本発明における迅速性抗生物質活性評価法は、空气中などの環境中に存在する試験用微生物以外の微生物による影響を受けても、その影響を排除あるいは無視できる条件で評価することを目的としている。

【0045】

前記の迅速性抗生物質活性評価法は、繊維製品衛生加工協議会が抗菌防臭加工繊維製品に認定マーク（SEKマーク）を認定する際に採用している、主として非溶出型加工薬剤で処理した製品の効力評価方法であるシェークフラスコ法（技術情報協会編：抗菌・防黴剤の使用技術と抗菌力試験・評価、244、技術情報協会（1996））と類似した評価法である。シェークフラスコ法では、リン酸緩衝液を入れて121℃でオートクレーブ滅菌したフラスコ中に1.0×1.0cm程度に切断した供試繊維製品および供試微生物培養液を添加し、1時間振盪して菌体と供試繊維製品を接触させた後、混釈寒天平板法で生菌数を計数し、供試繊維製品を添加せずに同様に操作した対照と生菌数を比較するものである。

【0046】

従来の遊離薬剤に適用する拡散法に基づく試験法では、試験用微生物と薬剤の接触時間を24時間以上維持して、微生物に対する効果を評価しているのに対して、本発明における迅速性抗生物質活性評価法と前記シェークフラスコ法に共通

する条件は、試験用微生物と薬剤の接触時間を短く設定していることである。この条件下では、試験開始時に培養液中に試験用微生物以外の微生物が存在した場合でも、試験用微生物の添加量に比べて極めて少ない場合は、通常の試験用微生物が対数増殖期後期あるいは定常期に達する6～8時間の培養時間内で評価すれば、試験用微生物以外の微生物の影響を排除あるいは無視できると考えられるためである。

加えて、前記迅速性抗生物質活性評価法においては、対照と常に比較しながら分光光度計を用いて、試験用微生物培養液の波長600nmにおける吸光度を経時的に測定し、試験用微生物の増殖過程を追跡するため、試験用微生物以外の微生物の影響を排除することができ、現状では妥当な評価方法であると信ずる。

【0047】

(5) 本発明の生物活性を持つ高分子基体製品の利用例

本発明では、選択的生物活性を発揮する低分子薬理化合物を高分子化合物よりなる基体に共有結合させて生物活性を持つ高分子基体製品とする。該本発明の生物活性を持つ高分子基体製品に結合している低分子薬理化合物が高分子基体から遊離しないという特性は、(i) 本発明の生物活性を持つ高分子基体製品によって処理された被処理体の中に遊離している低分子薬理化合物が残らないという長所と引換えに、(ii) 何らかの手段で生物活性を持つ高分子基体製品と標的作用体とを直接接触させなければならないという製品使用条件を満たさなければならないことを意味する。

【0048】

従って、例えば、血液、体液、水、飲料、空気、食品、飼料などの流体もポンプ等を用いて搬送して本発明の生物活性を持つ高分子基体製品と短時間接触させれば、処理後流体中の残留毒性の心配なく流体から既存標的作用体を除去できる。

前記したような用途に対しては、例えば膜、網、球状フィルター形態の本発明製品が有利に使用でき、この場合、標的作用体としては、例えばビールス、微生物、花粉、卵、昆虫、小動物などの生命体から酵素、ホルモン、毒物などの非生命体まで広範な対象が挙げられる。

【0049】

本発明の生物活性を持つ高分子基体製品の別の利用例としては、ある程度長時間の使用を前提とした形態の本発明の生物活性を持つ高分子基体製品がある。例えばシート状、ペイント状あるいは繊維状に加工された本発明の高分子基体製品を衣料、カーテン、シーツ、塗装物、外皮膜、衛生用品などとして利用できる。

このように、本発明の選択的生物活性を発揮する低分子薬理化合物を結合した高分子基体製品は、様々な利用が可能であり、その利用例はここに示したものに限定されるものではない。

本発明の具体的な用途としては、医薬、医療、食品分野に限らず、日常生活、飼育、栽培や水環境（水質保全、微生物の異常発生防止等を含む）等に係わる環境の調整が挙げられ、前記環境の調整には、バイオ・ケミカルフィルタ等のろ過が挙げられ、また微生物培養（例えば醸造、飼料生産）における環境設定が挙げられる。さらに、具体的には、水処理、空気処理等での処理プロセス、さらには検査、分析分野（アフィニティクロマトグラフ等）その他、多方面に使用することができる。

【0050】

【実施例】

以下に本発明の選択的生物活性を発揮する低分子化合物を高分子化合物よりなる基体に結合した高分子基体製品の使用の実施例を具体的に示す。ただし、本発明は以下の実施例によって制限されるものではない。

【0051】

実施例1 アンピシリンを固定化したカルボン酸型グラフト繊維

ポリプロピレンよりなる目付 50 g/m^2 、厚み 0.4 mm の不織布（三井石油化学工業（株）製、商品名シンテックスPS-110）に電子線（ 2 MeV 、 1 mA ）を窒素雰囲気中で 200 kGy 照射した。その後、この繊維をアクリル酸／メタノール＝ $1/9$ のモノマー液に浸し、 40°C で4時間反応させた結果、アクリル酸のグラフト率 78.5% の繊維ができた（以下これを「カルボン酸型グラフト繊維」という）。本カルボン酸型グラフト繊維のイオン交換容量は 6 meq/g であった。なお、グラフト率は次式によって計算した。

グラフト率 = { (グラフト後基材重量 - グラフト前基材重量) / グラフト前基材重量 } × 100 (%)

【0052】

アンピシリン・ナトリウム塩（分子量349.42）51.3mg（アンピシリン遊離塩基換算で48.2mg相当）、1.0×1.0cmの正方形に切断したカルボン酸型グラフト繊維40枚（総重量513mg）、1-エチル-3-（3-ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド（水溶性カルボジイミド）塩酸塩252.4mgを250ml三角フラスコ中のpH4.4のM/100リン酸カリウム緩衝液50mlに加え、5℃で20時間振とう（回転半径12cm；回転数80回/分）して、アンピシリンをカルボン酸型グラフト繊維上に固定化した。

対照として水溶性カルボジイミドを含まない結合反応（前記カルボン酸型グラフト繊維496mg、アンピシリン・塩酸塩51.3mgを50mlのpH4.4のM/100リン酸カリウム緩衝液に加えたもの）を同一条件で実施した。

反応終了後、各標品を取り出し、100mlの純水で二回洗浄し、さらに100mlの純水を加え、室温で3時間振とう洗浄した。洗浄を済ませたアンピシリン固定化標品および対照標品は、カビなどの雑菌汚染を防止するために、洗浄後直ちに純エタノール中に浸し、冷蔵庫中で保存した。

【0053】

これらのアンピシリン固定化カルボン酸型グラフト繊維と対照カルボン酸型グラフト繊維のイオウ（S）および窒素（N）の元素分析値は次の通りであった：

アンピシリン固定化標品 S 0.131%、 N 1.19%

対照カルボン酸型グラフト繊維標品 S 0.0007%、N 0.02%

ト繊維標品

Sはアンピシリンに由来するので、上記のS元素分析値からこの固定化実験では総量7.41mgのアンピシリンが固定化されたと計算される。従って一枚のアンピシリン固定化カルボン酸型グラフト繊維には185μg/枚のアンピシリンが固定化されていることになる。Sの元素分析値に対してNの元素分析値が著しく高いが、従来の知見からアンピシリンの固定化に使われないうまカルボジイミド活性化状態に維持されているカルボキシル基が多量共存しているものと見なし

た。

【0054】

アンピシリンのカルボン酸型グラフト繊維との結合位置および結合様式を、図1 (A) に示す。他方、アンピシリンのカルボキシル基をアミノ型グラフト繊維のアミノ基に結合したもの (図1 (B)) は、アンピシリン特有の生物活性を発揮できない。

前記迅速性抗生物質活性評価法で調べた *Staphylococcus aureus* FDA209P に対するこれらのアンピシリン固定化標品と対照標品の抗菌活性試験結果を図2 に示す。さらに同じ試験条件下で *Bacillus subtilis* ATCC6633、*Bacillus anthracis*、*Staphylococcus aureus* K2、*Staphylococcus aureus* Smith 等に対しても、このアンピシリン固定化カルボン酸型グラフト繊維は抗菌活性を示した。しかし *Escherichia coli* NIHJ、*Proteus vulgaris* OX-19、*Klebsiella pneumoniae* PCI602、*Candida albicans* 3143、*Aspergillus niger*、*Micrococcus luteus* ATCC9341 等に対しては無効であった。すなわち、本発明のアンピシリン固定化カルボン酸型グラフト繊維は、選択的生物活性を発揮することが確認された。

【0055】

従来の抗生物質の薬効を評価する方法により得られたアンピシリンの抗菌スペクトラム (上田泰、清水喜八郎共編; β -ラクタム系薬、p. 164、1987より抜粋) を表1 に示す。本発明のアンピシリン固定化カルボン酸型グラフト繊維は、アンピシリンが遊離状態で発揮する抗菌活性と同様のスペクトルを持つことが明らかになった。

【0056】

【表1】

第1表 アンピシリンの抗菌スペクトラム

	最終阻止濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA209P	0.015
<i>Bacillus anthracis</i>	0.031
<i>Kiebsiella pneumoniae</i>	5.0

【0057】

このアンピシリン固定化カルボン酸型グラフト繊維標品は、洗浄液のTOC（全有機物濃度）がブランク値と等しい約 $20\mu\text{g}/\text{l}$ になるまで高度脱イオン水で徹底洗浄しても、同等の抗菌活性を保持しており、さらに 80°C 、10分間の加熱処理にかけても、*Staphylococcus aureus* FDA209P に対する抗菌活性を保持し続けていた。

図3はアンピシリン固定化カルボン酸型グラフト繊維標品固定化物表面積と抗菌活性の相関関係を*Staphylococcus aureus* FDA209P を使って調べた結果である。この図から明らかなように、アンピシリン固定化カルボン酸型グラフト繊維標品の表面積（即ち一枚の被験シート上のアンピシリンの絶対量）は抗菌活性と正の相関関係を持っていた。

これらの標品について常法に従いpH8.5の1Mグリシンおよびエタノールアミンによる室温、3時間処理を行ない、活性化状態の未反応カルボキシル基を不活化しても、抗菌活性は変化しなかった。

【0058】

実施例2 セファレキシンあるいはセフォタキシム固定化したカルボン酸型グラフト繊維

実施例1の反応混合物組成中のアンピシリン・ナトリウム塩を当量のセファレキシンまたはセフォタキシムで置き換え、同じ条件でカルボン酸型グラフト繊維

に固定化し、前記抗生物質活性迅速評価法を用いて抗菌活性試験したところ、セファレキシム固定化カルボン酸グラフト繊維もセフトキシム固定化カルボン酸型グラフト繊維とともに *Staphylococcus aureus* FDA209P に明白な抗菌活性を示した。

【0059】

実施例3 アンピシリン固定化したカルボン酸型アガロース・ビーズ

アガロースを基材とし、官能基としてカルボキシル基を持つビーズ状変性天然高分子（市販名：ECH-Sepharose 4B）0.5mlを室温で純水に懸濁し、洗浄した後、pH4.5のM/100リン酸カリウム緩衝液5mlに懸濁し、アンピシリン・ナトリウム塩5mg、水溶性カルボジイミド塩酸塩25mgを加え、5℃で6時間温和に攪拌した。固定化反応終了後、純水で十分洗浄したアンピシリン固定化ECH-Sepharose 4B 0.1ml用い、前記抗生物質活性迅速評価法で *Staphylococcus aureus* FDA209P に対する抗菌活性を調べたところ、明白な抗菌活性を示すことが確認された。

【0060】

実施例4 アンピシリン固定化したカルボン酸型合成樹脂ビーズ

多孔性カルボン酸型合成樹脂からなるビーズ状多孔性高分子基体（市販名：Daiaion WK10）0.5mlを室温で純水に懸濁し、洗浄した後、pH4.5のM/100リン酸カリウム緩衝液5mlに懸濁し、アンピシリン・ナトリウム塩5mg、水溶性カルボジイミド塩酸塩25mgを加え、5℃で24時間攪拌した。固定化反応終了後、純水で十分に洗浄したアンピシリン固定化Daiaion WK10 0.1mlを用い、前記抗生物質活性迅速評価法で *Staphylococcus aureus* FDA209P に対する抗菌活性を調べたところ、抗菌活性の発現を確認した。

【0061】

実施例5 アンピシリン固定化したオキシラン・アクリル酸ビーズ

メタクリルアミドよりなる主要構造を持ち、エポキシ基を含有するビーズ状合成高分子基体（市販名：オイパーギット）0.5gを室温で純水に懸濁し、洗浄した後、pH8.5のリン酸ナトリウム・カリウム緩衝液30mlに懸濁し、アンピシリン・ナトリウム塩100mgを加え、25℃で24時間攪拌した。反応終了後

、ビーズ製品製造業者の指示に従い、8 g グリシン / 100 ml 0.5 M リン酸緩衝液 (pH 8) で未反応のエポキシ基を失活させた。アンピシリン固定化オイバーギット 0.05 g を取り、純水洗浄後、前記抗生物質活性迅速評価法で *Staphylococcus aureus* FDA209P に対する抗菌活性を調べたところ、抗菌活性の発現を確認した。

【0062】

実施例 6 アンピシリンまたはセファレキシンを固定化したカルボン酸型セルロース・ビーズ

セルロースを基材とし、官能基としてカルボキシル基を持つビーズ状変性天然高分子 (市販名: CMセルロファイン C-200) 5 ml ずつを室温で純水に懸濁、洗浄した後、pH 4.5 の M / 100 リン酸緩衝液 20 ml ずつと混合し、室温で 30 分間振とうした。それぞれに対し 250 mg の水溶性カルボジイミド塩酸塩を加えて、室温で 30 分間攪拌後、アンピシリン・ナトリウム塩またはセファレキシン 10 mg を加え、室温で 5 時間固定化処理した。常法により十分に純水洗浄した後、前記迅速性抗生物質活性評価法で *Staphylococcus aureus* FDA209P に対する抗菌活性を調べたところ、これらのベータ・ラクタム固定化カルボン酸型セルロース・ビーズは *Staphylococcus aureus* FDA209P に強い抗菌活性を示した。

【0063】

実施例 7 1, 1-カルボニルビス-1H- (カルボジイミド) イミダゾール (非水溶性カルボジイミド) を用いてアンピシリンとセファレキシンを固定化したカルボン酸型グラフト繊維

実施例 1 で使用したカルボン酸型グラフト繊維切断片 (1.0 × 1.0 cm) 10 枚ずつを pH 4.5 の M / 10 リン酸緩衝液に浸した後、脱水乾燥させた。これら切断片を無水ジメチルスルフォキサイド 5 ml に入れ、アンピシリン・ナトリウム塩またはセファレキシン 10 mg を加え、無水状態 5℃ で一夜固定化させた。

固定化反応後、ベータ・ラクタム固定化カルボン酸型繊維切断片をジメチルスルフォキサイドで十分に洗浄し、実施例 1 と同様に前記迅速性抗生物質活性評価法で *Staphylococcus aureus* FDA209P に対する抗菌活性を調べたところ、抗菌活性の発現を確認した。

【0064】

実施例8 ストレプトマイシン、ミノサイクリン、クロラムフェニコールあるいはマクロライド（エリスロマイシン、ロイコマイシン、オレアンドマイシン）を固定化したカルボン酸型グラフト膜

実施例1の反応組成の中のアンピシリンを同重量のストレプトマイシン、ミノサイクリン、クロラムフェニコール、エリスロマイシン、ロイコマイシン、ジョサマイシンまたはオレアンドマイシンで置き換え、同様に固定化处理し、十分に洗浄後、実施例1と同様にStaphylococcus aureus FDA209P に対する抗菌活性を調べ、抗菌活性の発現を確認した。固定化抗生物質の結合位置については未確認である。

【0065】

【発明の効果】

本発明の方法により得られる、選択的生物活性低分子化合物を担持する高分子基体製品は、薬物を環境内に遊離することなく、標的作用体に直接接触して生物活性を発揮できるので、標的以外の作用体に悪影響を与えたり、環境を汚染することがなく、薬剤使用の結果を享受すべき人間、動植物、自然環境に対する副作用の少ない治療処理方法を提供することができる。

前記高分子基体として、グラフト化した高分子化合物を用いるときには、そのグラフト鎖をスペーサとしてそれに選択的生物活性低分子化合物を結合させることができ、その場合にはグラフト鎖の末端や途中に前記低分子化合物を多数付けることができ、作用の程度が大きいものが得られる。さらに、グラフト鎖により、前記低分子化合物の薬理作用が及ぶ領域を広いものとすることができ、有効に用いることができる。

【0066】

本発明は、特に、低分子化合物のもつ生物活性の選択性に加え、基質に固定化された状態での作用発現という空間的な作用域の不拡散性、安定性により、標的とする作用体のみに有効に作用させることができ、標的外のものに不必要な作用を与えることがなく、例えば環境微生物や正常細胞の無差別な殺滅をすることがない。そのため、長期にわたり副作用がなく、薬害を無視できる程度まで減少さ

せることができる。これにより新しい環境調整方法や物質生産方法、培養方法（醗酵、醸造を含む）、緊急治療法等を提供することもできる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1（A）は、アンピシリンの2位カルボキシル基をそのまま維持し、アミノ基を用いて高分子基体のカルボキシル基に固定化した状態を示す。

図1（B）は、アンピシリンの2位カルボキシル基を用いて高分子基体のアミノ基に固定化した状態を示す。

【図2】

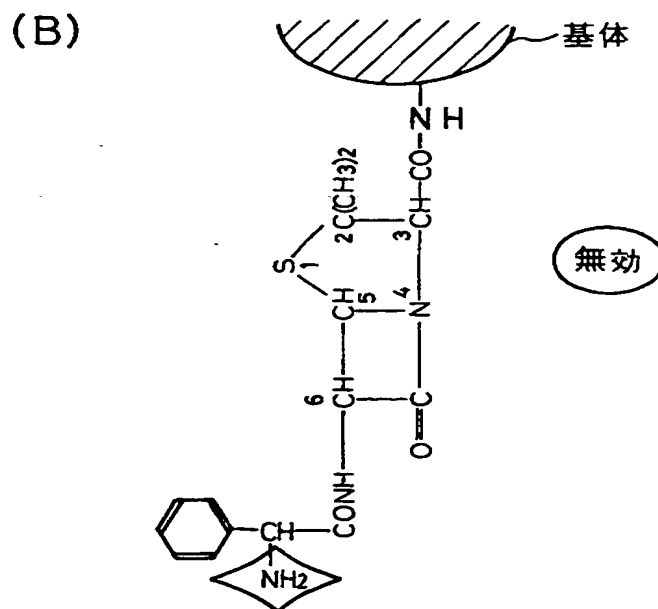
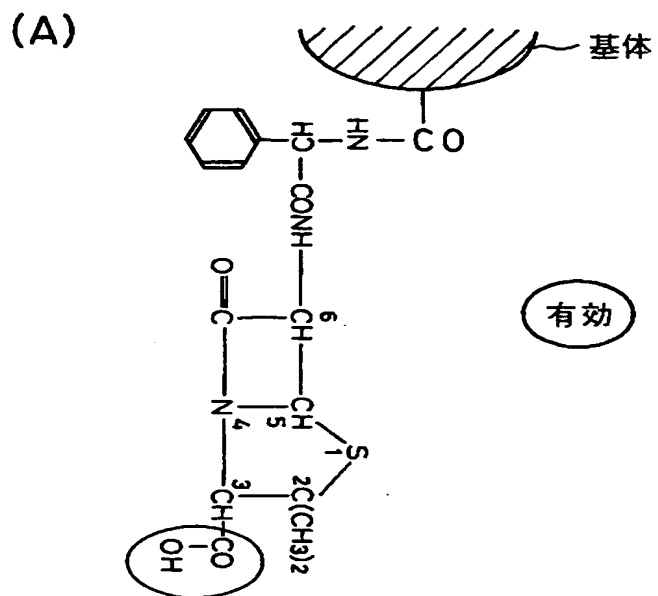
アンピシリン固定化カルボン酸型グラフト繊維の *Staphylococcus aureus* FDA209P 生物活性を評価した結果を示す図。

【図3】

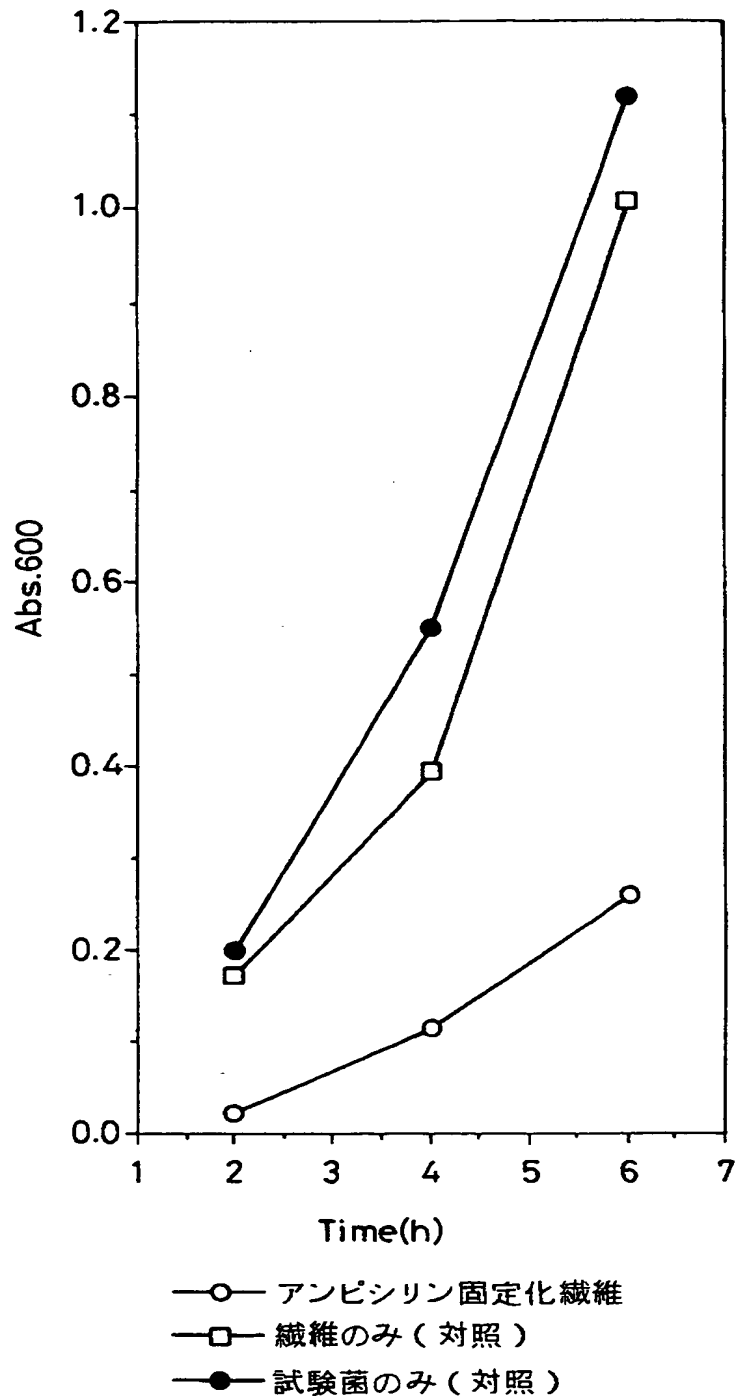
アンピシリン固定化カルボン酸型グラフト繊維の *Staphylococcus aureus* FDA209P に対する生物活性を、アンピシリン固定化カルボン酸型グラフト繊維切断片の面積と抗菌活性の関係として評価した結果を示す図。

【書類名】 図面

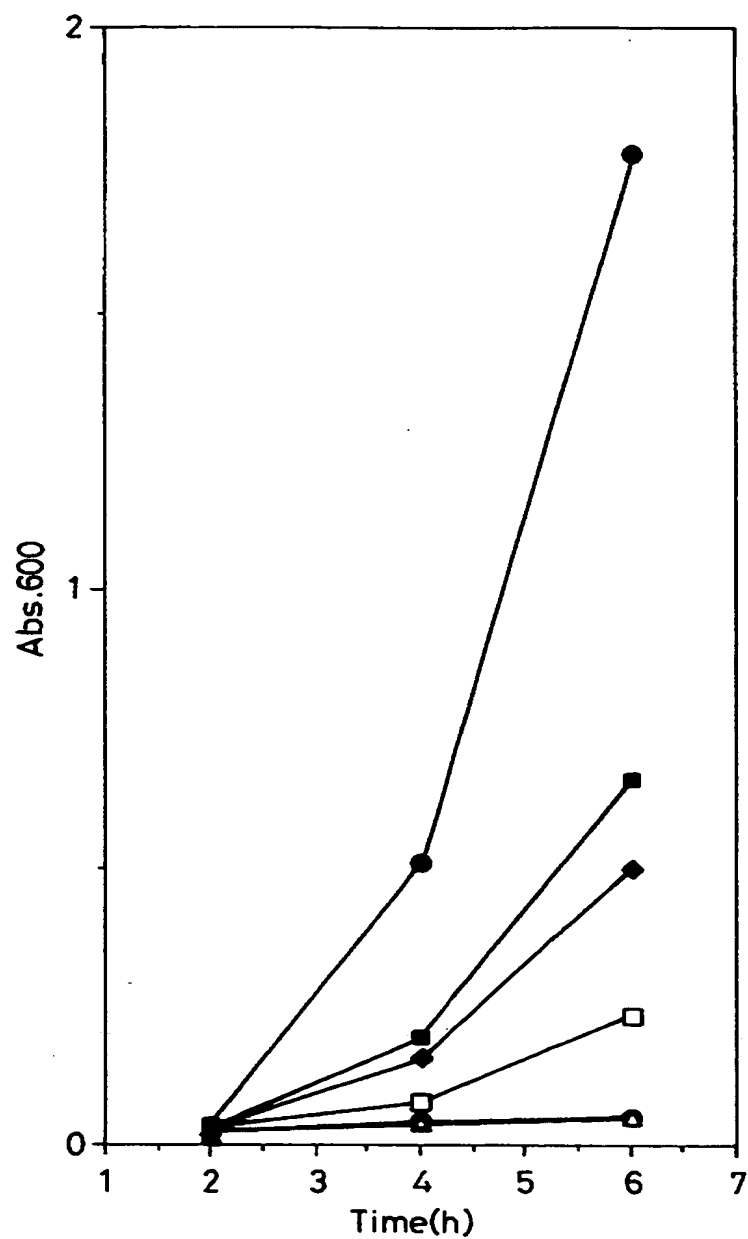
【図1】



【図2】



【図3】



アンピシリン固定化繊維
1cm×1cm

- 1 枚添加
- △— 1/2 枚添加
- 1/4 枚添加
- ◆— 1/8 枚添加
- 1/16 枚添加
- 試験菌のみ(対照)

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 自由拡散によって好ましくない副作用や環境汚染を惹起することを防止するために、薬効を持つ低分子化合物が遊離化することなく、かつ本来の薬効を発揮できるように、結合させた生物活性を持つ高分子基体製品を提供する。

【解決手段】 選択的生物活性（薬効）を発揮する低分子化合物を高分子化合物よりなる基体に結合し、前記高分子基体に結合している前記低分子化合物が、結合している状態で前記選択的薬効の対象となる標的作用体と接触し、薬効を発揮することを特徴とする生物活性を持つ高分子基体製品。前記選択的薬効を発揮する低分子化合物としては、種々の抗生物質等の薬効を持つ薬剤が挙げられる。また、前記高分子基体としては、グラフト化された高分子化合物が好い。

【選択図】 なし

【書類名】 職権訂正データ
【訂正書類】 特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】 000000239
【住所又は居所】 東京都大田区羽田旭町 1 1 番 1 号
【氏名又は名称】 株式会社荏原製作所

【代理人】 申請人

【識別番号】 100073874
【住所又は居所】 東京都港区赤坂 1 丁目 1 2 番 3 2 号 アーク森ビル
2 8 階 栄光特許事務所
【氏名又は名称】 萩野 平

【選任した代理人】

【識別番号】 100081075
【住所又は居所】 東京都港区赤坂 1 丁目 1 2 番 3 2 号 アーク森ビル
2 8 階 栄光特許事務所
【氏名又は名称】 佐々木 清隆

【選任した代理人】

【識別番号】 100066429
【住所又は居所】 東京都港区赤坂 1 丁目 1 2 番 3 2 号 アーク森ビル
2 8 階 栄光特許事務所
【氏名又は名称】 深沢 敏男

【選任した代理人】

【識別番号】 100093573
【住所又は居所】 東京都港区赤坂 1 丁目 1 2 番 3 2 号 アーク森ビル
2 8 階 栄光特許事務所
【氏名又は名称】 添田 全一

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000000239]

1. 変更年月日	1990年 8月31日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都大田区羽田旭町11番1号
氏 名	株式会社荏原製作所

